

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/006701

International filing date: 30 March 2005 (30.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-106136
Filing date: 31 March 2004 (31.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 12 May 2005 (12.05.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2 0 0 4 年 3 月 3 1 日

出 願 番 号
Application Number: 特 願 2 0 0 4 - 1 0 6 1 3 6

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
J P 2 0 0 4 - 1 0 6 1 3 6
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

出 願 人
Applicant(s): 財団法人 東京都医学研究機構

2 0 0 5 年 4 月 2 0 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



【書類名】	特許願
【整理番号】	P04-030
【提出日】	平成16年 3月31日
【あて先】	特許庁長官 殿
【国際特許分類】	G01N 33/00
【発明者】	
【住所又は居所】	東京都杉並区宮前1－15－9－402
【氏名】	池田 和隆
【発明者】	
【住所又は居所】	広島県呉市広駅前1－8－26 フォーレス広駅前A201
【氏名】	井手 聡一郎
【発明者】	
【住所又は居所】	宮城県仙台市青葉区国見ヶ丘二丁目27番地4
【氏名】	曾良 一郎
【特許出願人】	
【識別番号】	591063394
【氏名又は名称】	財団法人 東京都医学研究機構
【代理人】	
【識別番号】	100092783
【弁理士】	
【氏名又は名称】	小林 浩
【電話番号】	03-3273-2611
【選任した代理人】	
【識別番号】	100095360
【弁理士】	
【氏名又は名称】	片山 英二
【選任した代理人】	
【識別番号】	100093676
【弁理士】	
【氏名又は名称】	小林 純子
【選任した代理人】	
【識別番号】	100120134
【弁理士】	
【氏名又は名称】	大森 規雄
【手数料の表示】	
【予納台帳番号】	157061
【納付金額】	21,000円
【提出物件の目録】	
【物件名】	特許請求の範囲 1
【物件名】	明細書 1
【物件名】	図面 1
【物件名】	要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

ミューオピオイド受容体遺伝子の遺伝子多型、又は当該遺伝子多型により構成されるハプロタイプと、個体の薬物感受性とを関連づけることを特徴とする、薬物感受性の評価方法。

【請求項 2】

薬物がミューオピオイド受容体機能修飾薬である請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

ミューオピオイド受容体機能修飾薬が、メタンフェタミン、メチレンジオキシメタンフェタミン、アンフェタミン、デキストロアンフェタミン、ドバミン、モルヒネ、DAMGO、コデイン、メサドン、カルフェンタニール、フェンタニール、ヘロイン、コカイン、ナロキソン、ナルトレキソン、ナロルフィン、レボルファン、ペンタゾシン、ブプレノルフィン、オキシコドン、ヒドロコドン、レボルファノール、エトルフィン、ジヒドロエトルフィン、ヒドロモルホン、オキシモルホン、エタノール、メタノール、ジエチルエーテル及びトラマドールからなる群から選択される少なくとも 1 つである請求項 2 記載の方法。

【請求項 4】

遺伝子多型が、一塩基多型、インサクション型多型、デリーション型多型及び塩基繰り返し多型からなる群から選択される少なくとも 1 つである請求項 1 記載の方法。

【請求項 5】

遺伝子多型が表 4 に示されるものである請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

ハプロタイプが表 5 又は 8 に示されるものである請求項 1 記載の方法。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の方法により評価された結果を指標として、個体に投与する薬物の種類及び/又は量を決定する方法。

【請求項 8】

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の方法により評価された結果を指標として、個体に投与する薬物の副作用を予測する方法。

【請求項 9】

配列番号 1 ～ 98 に示すいずれかの塩基配列のうち第 51 番目の塩基を含む少なくとも 10 塩基の配列又はこれに相補的な配列からなるオリゴヌクレオチド。

【請求項 10】

10 ～ 45 塩基の長さを有する請求項 9 記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 11】

配列番号 1 ～ 98 に示す塩基配列又はこれに相補的な塩基配列からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド。

【請求項 12】

請求項 9 ～ 11 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチドが支持体に固定されたマイクロアレイ。

【請求項 13】

請求項 9 ～ 11 のいずれかに記載のオリゴヌクレオチド及び/又は請求項 12 記載のマイクロアレイを含む、薬物感受性評価用キット。

【書類名】 明細書

【発明の名称】 ミューオピオイド受容体遺伝子解析による薬物感受性の評価方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、ミュー (μ) オピオイド受容体遺伝子解析による薬物感受性の評価方法に関する。

【背景技術】

【0002】

メタンフェタミンなどの覚醒剤は、モノアミン神経伝達を活性化することでその作用を発現しており、その中でもドパミンが最も直接的に覚醒剤の強化作用に関与していると考えられている（非特許文献1）。ドパミン神経系とオピオイド神経系が相互に作用することは、一般的に良く知られている。これまでに、オピオイド受容体アゴニストが、神経終末でのドパミン代謝を調節し、シナプス間隙へのドパミン放出を惹起すること（非特許文献2）や、メタンフェタミン誘発ドパミン神経伝達の変化を減弱させること（非特許文献3, 4）が報告されている。さらに、近年の遺伝子欠損動物を用いた実験などからも、両神経系の密接な相互作用の存在が示されている（非特許文献5～7）。それ故、オピオイド受容体の機能的変化によって、覚醒剤依存及び覚醒剤精神病様症状の形成され易さに個人差を生じる可能性が考えられる。

【0003】

ところで、 μ オピオイド受容体は、内因性のオピオイドペプチドや麻薬性鎮痛薬が、鎮痛作用並びに依存形成、耐性形成、禁断症状といった様々な副作用を発現する上で、非常に重要な役割を担っていることが明らかにされてきた。さらに最近では、麻薬性鎮痛薬以外の薬物やアルコールに対する依存や精神疾患の一部にもその関与が知られてきている（非特許文献8～11）。

【0004】

とくに、オピオイドや非オピオイドの薬物による依存形成の促進ないし抑制に、 μ オピオイド受容体遺伝子多型が影響する可能性が考えられている。これまでに、 μ オピオイド受容体遺伝子の多型研究において、主に欧米人 (Caucasian African-American) の遺伝子を用いて、翻訳領域や5' UTR 並びにintronの一部を中心に多型の存在が示されている（非特許文献12～14）。中でもアミノ酸変異を引き起こす一塩基多型A118Gに関しては、培養細胞系で発現させた変異型受容体において、内因性リガンドの一つである β エンドルフィンの結合親和性が上昇するとの報告があり、注目を集めている。さらに様々な人種において、A118Gを中心に麻薬・アルコール依存に関して調べられてきたが、関連性の有無は研究者によって異なっており、統一した結論には至っていないのが現状である（非特許文献15～21）。一方で、現在までに数多くの疾患・病態の遺伝的要因とヒト遺伝子多型の関係が研究されてきた。しかしながら、その多くは欧米人のゲノムを用いた解析であり、人種によって遺伝子多型の有無並びに発生頻度は大きく異なることが知られているので、日本人の疾患・病態と遺伝的要因を研究する上で、日本人のゲノムを用いた解析は必須である。

【非特許文献1】 Uhl GR, Hall FS, Sora I. Cocaine, reward, movement and monoamine transporters. *Mol Psychiatry*, 7, 21-6, (2002)

【非特許文献2】 Wood PL. Opioid regulation of CNS dopaminergic pathways: a review of methodology, receptor types, regional variations and species differences. *Peptides*, 4, 595-601, (1983)

【非特許文献3】 El Daly E, Chefer V, Sandill S, Shippenberg TS. Modulation of the neurotoxic effects of methamphetamine by the selective kappa-opioid receptor agonist U69593. *J Neurochem*, 74, 1553-62, (2000)

【非特許文献4】 Hayashi T, Tsao LI, Cadet JL, Su TP. [D-Ala2, D-Leu5]enkephalin blocks the methamphetamine-induced c-fos mRNA increase in mouse striatum. *Eur J Pharmacol*, 366, R7-8, (1999)

【非特許文献 5】Smith JW, Fetsko LA, Xu R, Wang Y. Dopamine D2L receptor knockout mice display deficits in positive and negative reinforcing properties of morphine and in avoidance learning. *Neuroscience*, 113, 755-65, (2002)

【非特許文献 6】Spielewoy C, Gonon F, Roubert C, Fauchey V, Jaber M, Caron M G, et al. Increased rewarding properties of morphine in dopamine-transporter knockout mice. *Eur J Neurosci*, 12, 1827-37, (2000)

【非特許文献 7】Chefer VI, Kieffer BL, Shippenberg TS. Basal and morphine-evoked dopaminergic neurotransmission in the nucleus accumbens of MOR- and DOR-knockout mice. *Eur J Neurosci*, 18, 1915-22, (2003)

【非特許文献 8】Lichtman AH, Sheikh SM, Loh HH, Martin BR. Opioid and cannabinoid modulation of precipitated withdrawal in delta(9)-tetrahydrocannabinol and morphine-dependent mice. *J Pharmacol Exp Ther*, 298, 1007-14, (2001)

【非特許文献 9】Becker A, Grecksch G, Kraus J, Loh HH, Schroeder H, Holtt V. Rewarding effects of ethanol and cocaine in mu opioid receptor-deficient mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 365, 296-302, (2002)

【非特許文献 10】Berrendero F, Kieffer BL, Maldonado R. Attenuation of nicotine-induced antinociception, rewarding effects, and dependence in mu-opioid receptor knock-out mice. *J Neurosci*, 22, 10935-40, (2002)

【非特許文献 11】Contarino A, Picetti R, Matthes HW, Koob GF, Kieffer BL, Gold LH. Lack of reward and locomotor stimulation induced by heroin in mu-opioid receptor-deficient mice. *Eur J Pharmacol*, 446, 103-9, (2002)

【非特許文献 12】Uhl GR, Sora I, Wang Z. The mu opiate receptor as a candidate gene for pain: polymorphisms, variations in expression, nociception, and opiate responses. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, 7752-5, (1999)

【非特許文献 13】Hoehe MR, Kopke K, Wendel B, Rohde K, Flachmeier C, Kidd K, et al. Sequence variability and candidate gene analysis in complex diseases: association of mu opioid receptor gene variation with substance dependence. *Hum Mol Genet*, 9, 2895-908, (2000)

【非特許文献 14】Mayer P, Holtt V. Allelic and somatic variations in the endogenous opioid system of humans. *Pharmacol Ther*, 91, 167-77, (2001)

【非特許文献 15】Bond C, LaForge KS, Tian M, Melia D, Zhang S, Borg L, et al. Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 95, 9608-13, (1998)

【非特許文献 16】Bergen AW, Kokoszka J, Peterson R, Long JC, Virkkunen M, Linnoila M, et al. Mu opioid receptor gene variants: lack of association with alcohol dependence. *Mol Psychiatry*, 2, 490-4, (1997)

【非特許文献 17】Sander T, Gscheidel N, Wendel B, Samochowiec J, Smolka M, Rommelspacher H, et al. Human mu-opioid receptor variation and alcohol dependence. *Alcohol Clin Exp Res*, 22, 2108-10, (1998)

【非特許文献 18】Gelernter J, Kranzler H, Cubells J. Genetics of two mu opioid receptor gene (OPRM1) exon 1 polymorphisms: population studies, and allele frequencies in alcohol- and drug-dependent subjects. *Mol Psychiatry*, 4, 476-83, (1999)

【非特許文献 19】Franke P, Wang T, Nothen MM, Knapp M, Neidt H, Albrecht S, et al. Nonreplication of association between mu-opioid-receptor gene (OPRM1) A118G polymorphism and substance dependence. *Am J Med Genet*, 105, 114-9, (2001)

【非特許文献 20】Shi J, Hui L, Xu Y, Wang F, Huang W, Hu G. Sequence variations in the mu-opioid receptor gene (OPRM1) associated with human addiction

to heroin. Hum Mutat, 19, 459-60, (2002)

【非特許文献21】 Schinka JA, Town T, Abdullah L, Crawford FC, Ordorica PL, Francis E, et al. A functional polymorphism within the mu-opioid receptor gene and risk for abuse of alcohol and other substances. Mol Psychiatry, 7, 224-8, (2002)

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、覚醒剤依存の中でも依存患者が多いメタンフェタミン依存及び覚醒剤精神病様症状の形成され易さに対する個人差を、 μ オピオイド受容体遺伝子多型を用いて予測する方法の提供を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

発明者は、鋭意研究を行った結果、いくつかの新たな μ オピオイド受容体遺伝子多型を見出し、メタンフェタミン依存性患者と健常人との間で有する当該遺伝子多型が異なることを明らかにし、本発明を完成するに至った。

【0007】

すなわち、本発明は以下の通りである。

(1) ミューオピオイド受容体遺伝子の遺伝子多型、又は当該遺伝子多型により構成されるハプロタイプと、個体の薬物感受性とを関連づけることを特徴とする、薬物感受性の評価方法。

【0008】

本発明において、上記の遺伝子多型は一塩基多型(SNP)、インサクション型多型、デリション型多型及び塩基繰り返し多型からなる群から選ばれる少なくとも1つが挙げられる。また、上記遺伝子多型は表4に示される多型を例示することができる。さらに、上記ハプロタイプは、例えば表5又は8に示されるものである。

【0009】

上記薬物には μ オピオイド受容体機能修飾薬、例えば、メタンフェタミン、メチレンジオキシメタンフェタミン、アンフェタミン、デキストロアンフェタミン、ドパミン、モルヒネ、DAMGO、コデイン、メサドン、カルフェンタニール、フェンタニール、ヘロイン、コカイン、ナロキソン、ナルトレキソン、ナロルフィン、レバロルファン、ペンタゾシン、ブプレノルフィン、オキシコドン、ヒドロコドン、レボルファノール、エトルフィン、ジヒドロエトルフィン、ヒドロモルホン、オキシモルホン、エタノール、メタノール、ジエチルエーテル及びトラマドールからなる群から選ばれる少なくとも1つを挙げることができる。

(2) 上記の方法により評価された結果を指標として、個体に投与する薬物の種類及び/又は量を決定する方法。

(3) 上記の方法により評価された結果を指標として、個体に投与する薬物の副作用を予測する方法。

(4) 配列番号1～98に示すいずれかの塩基配列のうち第51番目の塩基を含む少なくとも10塩基の配列又はこれに相補的な配列からなるオリゴヌクレオチド。

【0010】

上記のオリゴヌクレオチドは、好ましくは第51番目の塩基を含む10～45塩基の長さを有するものである。

(5) 配列番号1～98に示す塩基配列又はこれに相補的な塩基配列からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド。

(6) 上記のオリゴヌクレオチドが支持体に固定されたマイクロアレイ。

(7) 上記のオリゴヌクレオチド及び/又は上記のマイクロアレイを含む、薬物感受性評価用キット。

【発明の効果】

【0011】

本発明により、 μ オピオイド受容体遺伝子の新規多型が提供される。本発明の多型を用いることで、薬物に対する個人の感受性の差を評価することができる。この感受性評価方法により、モルヒネ等の麻薬性薬物の処方適正量を知ることが可能となる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

以下、本発明を詳細に説明する。

1. 本発明の概要

本発明者は、健常人を対象とした μ オピオイド受容体遺伝子多型解析により、多くの新規遺伝子多型を同定した。ヒト μ オピオイド受容体のmRNAは、エクソン1～4にコードされており、エクソン1の前方には5'非翻訳領域が存在し、エクソン1～4の間にはそれぞれイントロン1～3が、そしてエクソン4の後方には3'非翻訳領域が存在している。そして、本発明の遺伝子多型は、これらのイントロン、エクソン等の中に既報の多型とは異なった新規のものが多数含まれていた。また、本発明の新規遺伝子多型のうち、イントロン3、及び3'非翻訳領域に見られるSNPの多くは、完全連鎖不平衡の関係にあった。ここで、連鎖平衡とは二つの多型間の染色体上の関係が独立な場合をいい、連鎖不平衡とは多型と多型が連鎖しているためにメンデルの独立の法則による平衡状態から逸脱している場合をいう。

【0013】

また、本発明者は、上記SNP情報を利用して、一群のSNPの情報をハプロタイプ別に組織化した。ハプロタイプとは、一組の対立遺伝子のうちの一方（片方の親に由来する遺伝子）において、相互に近隣する遺伝子やSNPなどの遺伝的構成を意味する。ゲノム上近接するSNPは、連鎖不平衡の強いブロック（ハプロタイプブロック）で遺伝する。言い換えれば、ハプロタイプはこのハプロタイプブロック内の、同一遺伝子の並び方の組み合わせであるとも言える。そして、いくつかのSNPが、ある表現（例えば疾患の発生）に関連して出現する場合には、個々のSNPを全てタイピングしなくても、ハプロタイプを構成するいくつかのSNPを解析することによって、患者の遺伝子型と表現型との関連を明らかにすることができる。本発明者は、ハプロタイプ解析の結果から、4つのハプロタイプブロックを推定することができた。

【0014】

疾患の発症、あるいは薬物感受性は、ひとつの多型のみについて関連するのではなく、多くの場合ハプロタイプ単位で関連する。また、非翻訳領域外に存在する未知の多型を明らかにするのは非常に困難である。従って、ハプロタイプは、多型と疾患や薬物感受性との関連性を見出すために使用される。そこで、本発明は、薬物の感受性を評価するのに用いる遺伝子多型として、上記のSNPだけでなく、ハプロタイプを利用した方法も提供する。

【0015】

本発明者は、ハプロタイプ解析の結果から明らかとなった4つの推定ハプロタイプブロックを代表するSNPの頻度を、健常人とメタンフェタミン依存患者において比較したところ、両者の出現頻度に差が存在し、特に、覚醒剤精神病様症状に分類して比較したときに、両者の差はより顕著であることを明らかにした。

【0016】

従って、本発明で明らかとしたSNP又はハプロタイプを解析することによって、個々人の薬物感受性を評価することが可能となる。この薬物感受性は、薬物の種類や量を決定する上で重要な情報となる。特に、覚醒剤やモルヒネなどは、使用方法によっては社会的な大きな問題を生じる可能性もあるため、各個人に適切な投薬量を投薬前にあらかじめ知ることは極めて有用である。

【0017】

2. μ オピオイド受容体遺伝子多型

本発明のヒト μ オピオイド受容体遺伝子多型は、主に一塩基多型(single nucleotide p

olymorphism, SNP)、インサージョン／デリーション型多型、及び塩基配列の繰り返し数が異なっていることにより生じる多型を含む。

【0018】

SNP (SNPs)とは、遺伝子の特定の1塩基が他の塩基に置換することによる多型を意味する。インサージョン／デリーション型多型とは、1以上の塩基が欠失／挿入することによる多型を意味する。また、塩基配列の繰り返し数の異なることにより生じる多型（塩基繰り返し多型）には、繰り返す塩基数の違いによりマイクロサテライト多型（塩基数：2～4塩基程度）とVNTR (variable number of tandem repeat)多型（繰り返し塩基：数～数十塩基）があり、その繰り返し数が個人によって異なっている多型を意味する。

【0019】

本発明によって明らかにされたヒト μ オピオイド受容体遺伝子多型の情報を後述の表1、表2及び表3に示す。これらの表には、1塩基多型、インサージョン／デリーション型多型及び塩基配列の繰り返し数が異なっていることにより生じる多型が含まれる。

【0020】

本発明は、ミューオピオイド受容体遺伝子のうち、表1、表2及び表3に示される遺伝子多型を含むオリゴヌクレオチドを提供する。本発明において表1、2及び3に表される遺伝子多型情報を得る方法は、以下の通りである。

【0021】

ヒトから採取した血液検体から、フェノール法等を用いてゲノムDNAを精製する。その際、GFX Genomic Blood DNA Purification Kit等の市販のゲノムDNA抽出キットや装置を用いてもよい。次に、得られたゲノムDNAを鋳型として、PCR法によりゲノムDNAをいくつかに分けて増幅し、シーケンス用の鋳型DNAとする。本発明は、遺伝子の多型を対象とするため、PCR法に用いる酵素はなるべくfidelityの高いものを用いることが望ましい。 μ オピオイド受容体の5'非翻訳領域（5' UTR 及び5' flanking region）は、開始コドンよりも上流6000bpまでの領域、好ましくは5800bpまでの領域を2～4つにわけてPCR増幅を行う。エクソン1、エクソン2－イントロン2－エクソン3、エクソン4、さらにイントロン1又は3の一部は、それぞれの箇所毎にPCR法により全域を増幅する。エクソン4は終止コドンより下流の約3000bpを含んでもよい。3'非翻訳領域は終止コドンよりも下流に14000bp、好ましくは13900bpまでの領域を4～6つのPCRにより増幅を行う。これらのPCR断片の全領域の塩基配列を、GenBankに公開されている配列情報に基づいて設計したプライマーを用いて約500bpずつシーケンス法により解読し、目的の遺伝子多型を得ることができる。このようにして得られた多型情報を表1に示す。

【0022】

【表 1】

日本人健常人のゲノム上で見られた SNP とその多型頻度

Position	SNP name	Amino acid substitution	Allelic frequency	Sample size	Reported Allelic frequency
5'flanking region and 5'UTR	A-5580G		<1.5%	44	
	C-5342T		<1.5%	44	
	A-5308G		<1.5%	44	
	C-5236T		<1.5%	44	
	G-5026A		<1.5%	44	
	G-4936A		<1.5%	44	
	C-4504A		<1.5%	44	
	T-2694G		<1.5%	44	
	A-2693C		<1.5%	44	
	T-2683C		<1.5%	44	
	T-2402C		<1.5%	44	
	C-1609T		<1.5%	44	
	G-696T		<1.5%	44	
	G-490T		<1.5%	44	
Exon 1	A118G	Asn40Asp	45.3%	213	7.5 - 25.8 %
Intron 1	IVS1-A4980G	-	2.7%	187	
	IVS1-A4910G	-	2.7%	187	
	IVS1-G4690A	-	<1.5%	113	
	IVS1-T4591G	-	2.7%	113	
	IVS1-T4456G	-	<1.5%	113	
Intron 2	IVS2+G31A	-	2.6%	232	4.2%
	IVS2+G518A	-	<1.5%	232	
	IVS2+G691C	-	81.9%	232	42.5 - 53.3%
Intron 3	IVS3+G5807A	-	44.4%	179	
	IVS3+G5953A	-	13.1%	179	
	IVS3+A6151G	-	92.5%	179	
	IVS3+A8449G	-	9.2%	179	
	IVS3+C8497T	-	31.3%	179	
	IVS3-G8804A	-	9.5%	179	
3'UTR	TAA+G886A	-	10.8%	97	
	TAA+T1360C	-	<1.5%	97	
	TAA+T1371C	-	10.8%	97	
	TAA+G1670A	-	11.4%	44	
	TAA+G1709A	-	5.7%	44	
	TAA+C2007T	-	11.4%	44	
	TAA+A2109G	-	8.4%	179	
	TAA+A2274G	-	11.7%	179	
	TAA+G2287A	-	90.8%	179	
	TAA+G2395C	-	8.4%	179	

表 1 において、「Position」はミューオピオイド遺伝子のゲノム上の位置を意味し、5'又は3'非翻訳領域、エクソン、イントロンを表す。「SNP name」は、ゲノム上の位置における SNP の名称であり、発明者が付与したものである。基本的に、3～4桁の数字及び記号の前と後にそれぞれ A、G、C 又は T のアルファベットが付与され、どの塩基の SNP であるかが識別されている。例えば「A-5580G」は、開始コドンから 5580 bp 上流 (5'側) の塩基が A と G との多型であることを示している。「Intron-1」欄の「IVS1-A4980G」は、イントロン 1 中の多型で、エクソン 2 に接するイントロン 1 の塩基を 1 として 4980 bp 上流の塩基が A から G になった多型であることを示している。同様に、「3'UTR」欄中の「TAA+G886A」は、終止コドンである TAA から 3'側に 886 bp の塩基が G から A になった多型であることを示している。

【 0 0 2 3 】

【表 2】

 μ オピオイド受容体遺伝子 3' 非翻訳領域に見られる多型と連鎖不平衡

TAA+	reported	major allele	minor allele	LD	TAA+	reported	major allele	minor allele	LD
886	A	G	A	*	8386	A(13)	A(16)	A(13)	*
1360	T	T	C		9000	C	C	T	
1371	T	T	C	*	9564	A	G		
1670	A	G	A	*	9669	G	A	G	*
1709	G	G	A		9716	T	T	A	
2007	C	C	T	*	9839	T	G	T	*
2026	G	G	A		9994	C	A	C	*
2109	A	A	G	*	10083	C	C	A	
2274	A	A	G		10223	A(4)	A(3)	A(4)	*
2287	G	A	G	*	10247	A	T	A	*
2395	G	G	C	(*)	10535	A	G		
2458	G	G	C		10704	G	G	A	
2482	T	T	C		10752	T	G	T	*
2497	G	G	A		11100	C	T		
2656	G	G	T	*	11129	C	A	C	*
2714	C	A			11132	CA(17)	CA(17)	CA(14)	*
2820	G	G	T	*	11133	A	A	G	
2907	G	G	T		11368	TCTC	-	TCTC	*
3423	T	C			11411	T	T	C	
4026	A	G			11431	T	C	T	*
4585	A(6)	A(5)	A(6)		11449	-	TTTC	-	*
4861	A	A	C		11541	G	G	A	*
5359	A	A	G		11602	A	C	A	*
6074	A	A	C		11650	C	T		
6866	T	T	G	*	11918	C	C	T	*
6922	C	G	C	*	11956	A	C		
7075-7396	322 bp	-			12143	A	A	G	*
7427	C	C	T	*	12630	A	G		
7483	A	-			12681	T	T	C	*
7536	T	C	T	*	12831	T	C		
7589	A	G	G		12834	G	C		
8116	C	T	C	*	13236	T(15)	T(14)	T(15)	
8165	C	T	T		13971	G	T		
8281	G	A	A						

表 2 の SNP は、3' 非翻訳領域における多型を示す。「TAA+」の列は、 μ オピオイド受容体の終止コドンである TAA からの塩基数を示している。「reported」は、GenBank 中に登録されている配列での遺伝子型を、「major allele」、「minor allele」は、それぞれ日本人ゲノム上で多数派と少数派の遺伝子型を表す。カッコ内の値は前の塩基の繰り返し数を表し、例えば「A(6)」は、A が 6 つ続いていることを意味する。「-」は欠失（デリレーション）又は挿入（インサクション）を意味する。「LD」（Linkage disequilibrium: 連鎖不平衡）の列の「*」は、有意かつ完全連鎖不平衡 ($D'=1.000$ 、 $r^2=1.000$) であることを意味する。

【0 0 2 4】

表 3 は、健常人における μ オピオイド受容体遺伝子の塩基繰り返し多型の例を示す。

【0 0 2 5】

【表 3】

- 健常人における μ オピオイド受容体遺伝子の塩基繰り返し多型

	number of repeats	11	12	13	14	15								
IVS3+6113 (GT)n	control (2n=358)	35	1	284	33	5								
	(%)	(9.8)	(0.3)	(79.3)	(9.2)	(1.4)								
	number of repeats	2	-	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
IVS3+8761 (32bp)n	control (2n=358)	34	-	1	12	100	33	118	18	9	6	25	2	
	(%)	(9.5)		(0.3)	(3.4)	(27.9)	(9.2)	(33.0)	(5.0)	(2.5)	(1.7)	(7.0)	(0.6)	

括弧内の数値は全体における % を表す。

表3において、「IVS3+6113(GT)_n」とは、イントロン3において、エクソン3に接するイントロン3の塩基を1として6113、6114bp下流に位置するGTをn回繰り返す多型を意味する。また、「IVS3+8761(32bp)_n」とは、イントロン3において同様に8761bp下流に位置する23bpを一単位としてn回繰り返す多型を意味する。

【0026】

表1、2及び3に示される多型は、本発明の μ オピオイド受容体遺伝子多型に含まれる。また、本発明の遺伝子多型を含むオリゴヌクレオチドを表4に示す。例えば、本発明のオリゴヌクレオチドは、前記の多型を含有する配列番号1～98に示す塩基配列又はこれに相補的な塩基配列から選択されるオリゴヌクレオチドである(表4)。

【0027】

【表 4】

位置	通配子多型名	配列番号
5' UTR	A-55806	1
	C-5342T	2
	A-53080	3
	C-5236T	4
	G-5026A	5
	G-4936A	6
	C-4504A	7
	T-2694G	8
	A-2693C	9
	T-2683C	10
	T-2402C	11
	C-1609T	12
	G-696T	13
	G-490T	14
Exon 1	A118S	15
Intron 1	INS1-A4980S	16
	INS1-A4910S	17
	INS1-4908(A/C) ⁿ	18
	INS1-64590A	19
	INS1-T45910	20
	INS1-T4456S	21
Intron 2	INS2-G31A	22
	INS2-A5118A	23
	INS2-0891C	24
Intron 3	INS3-65807A	25
	INS3-05953A	26
	INS3-6113(G/T) ⁿ	27
	INS3-A6151G	28
	INS3-A8449G	29
	INS3-C8497T	30
	INS3-8761 (32bp) ⁿ	31
	INS3-08804A	32
3' UTR	TAA-0886A	33
	TAA-T1368C	34
	TAA-T1371G	35
	TAA-G1670A	36
	TAA-G1709A	37
	TAA-C2007T	38
	TAA-A2109G	39
	TAA-A2927A	40

。ここで、「51番目の塩基」は多型部位の塩基を意味し、当該塩基が必ずしも1個の塩基であるとは限らない。従って、デリション型の多型では塩基は存在しないため塩基数としては算入しないこととし、また、複数の塩基が繰り返されている「第51番目の塩基」として数えることとする。

【0028】

なお、表4において、「TAA+7075del(322bp)」と表示した遺伝子多型（配列番号58）に含まれる322bpの配列を、表の枠外下に示す。

【0029】

3. ハプロタイプ解析

本発明においては、上記遺伝子多型のうちSNPを用いてハプロタイプを構築することができる。ハプロタイプ解析の対象となるSNPは、その多型頻度が0.5%以上のものであればよく、好ましくは1%、より好ましくは5%以上のものを選択することができる。また、ハプロタイプ解析の対象となるSNPは、全部であってもその一部であってもよい。

【0030】

ハプロタイプ解析は種々のコンピュータプログラムで解析することが可能であり、例えば、Arlequin program (<http://anthro.unige.ch/arlequin>で入手) (Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin 2000: a software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept of Anthropology Univ of Geneva.)を用いることができる。

【0031】

ハプロタイプ解析の例として、前記2.においてのように見出した多型のうち、多型頻度が5%以上であった10箇所のSNPに関して、Arlequin programを用いてハプロタイプを推定する。この際、イントロン3から3'非翻訳領域にかけて存在する完全連鎖平衡を示すSNP群に関しては、そのうちの1つ、例えば「TAA+A2109G」を代表とすることができる。推定したハプロタイプを表5に示す。

【0032】

【表5】

健常人におけるμオピオイド受容体遺伝子多型のハプロタイプ

No.	frequency	A118G	IVS2 +G691C	IVS3 +G5807A	IVS3 +G5953A	IVS3 +A6151G	IVS3 +A8449G	IVS3 +C8497T	TAA +A2109G	TAA +A2274G	TAA +G2287A
1	4.9%	A	C	A	G	G	A	C	A	A	A
2	3.0%	A	C	G	G	G	A	C	A	A	A
3	24.6%	A	C	G	G	G	A	T	A	A	A
4	6.5%	A	G	G	A	G	A	C	A	G	A
5	5.4%	A	G	G	G	A	G	C	G	A	G
6	35.9%	G	C	A	G	G	A	C	A	A	A
7	3.6%	G	C	A	G	G	A	T	A	A	A
8	16.1%	27 haplotypes with lower frequencies less than three percents									
sum	100.0%										

健常人におけるミューオピオイド受容体遺伝子多型のハプロタイプは34ハプロタイプが推定され、そのうち3%の高頻度でみられるものは7ハプロタイプあり、3%以下の頻度で起こることが推定される27のハプロタイプについて、表5のNo. 8にまとめて表記している。

【0033】

次に、上記ハプロタイプ頻度をもとにして、連鎖不平衡解析を行う。連鎖不平衡の尺度を示す値であるD'値及び r^2 値は、以下の定義に基づき算出することができる。

定義：

SNP AとSNP Bとがあり、それぞれのalleleをA, aとB, bとする。SNP AとSNP Bとが作る4 haplotypesをAB, Ab, aB, abとし、それぞれのhaplotype頻度を P_{AB} , P_{Ab} , P_{aB} , P_{ab} とすると、

$$D = P_{AB} \times P_{ab} - P_{Ab} \times P_{aB}$$

(D>0のとき)

$$D' = (P_{AB} \times P_{ab} - P_{Ab} \times P_{aB}) / \text{Minimum}(((P_{AB} + P_{aB}) \times (P_{Ab} + P_{ab})), ((P_{AB} + P_{Ab}) \times (P_{aB} + P_{ab})))$$

(D<0のとき)

$$D' = (P_{AB} \times P_{ab} - P_{Ab} \times P_{aB}) / \text{Minimum}(((P_{AB} + P_{aB}) \times (P_{AB} + P_{Ab})), ((P_{aB} + P_{ab}) \times (P_{Ab} + P_{aB})))$$

$$r^2 = (P_{AB} \times P_{ab} - P_{Ab} \times P_{aB})^2 / [(P_{AB} + P_{Ab})(P_{AB} + P_{aB})(P_{aB} + P_{ab})(P_{Ab} + P_{aB})]$$

【但し、Minimum(((P_{AB}+P_{aB})×(P_{aB}+P_{ab})), ((P_{AB}+P_{Ab})×(P_{Ab}+P_{aB})))は、(P_{AB}+P_{aB})×(P_{aB}+P_{ab})と(P_{AB}+P_{Ab})×(P_{Ab}+P_{aB})との内、値の小さい方をとることを意味する。】

【0034】

表6は、健常人におけるミューオピオイド受容体遺伝子多型間の連鎖不平衡を示す一例である。

【0035】

【表6】

健常人におけるμオピオイド受容体遺伝子多型間の連鎖不平衡

Locus	A118G	IVS2 -G691C	IVS3 +G5807A	IVS3 +G5953A	IVS3 +A6151G	IVS3 +A8449G	IVS3 +C8497T	TAA +A2109G	TAA +A2274G	TAA +G2287A
A118G		<u>0.795</u>	<u>0.704</u>	0.626	<u>0.866</u>	<u>0.884</u>	0.633	<u>0.875</u>	0.458	<u>0.890</u>
IVS2 +G691C	0.125		<u>1.000</u>	<u>0.714</u>	<u>0.746</u>	<u>0.795</u>	<u>0.775</u>	<u>0.772</u>	0.672	<u>0.795</u>
IVS3 +G5807A	0.453	0.134		<u>0.921</u>	<u>0.849</u>	<u>0.883</u>	<u>0.895</u>	<u>0.868</u>	0.535	<u>0.883</u>
IVS3 +G5953A	0.052	0.341	0.102		0.023	0.009	<u>1.000</u>	0.034	<u>0.742</u>	0.009
IVS3 +A6151G	0.054	0.201	0.047	0.000		<u>1.000</u>	<u>1.000</u>	<u>1.000</u>	<u>1.000</u>	<u>1.000</u>
IVS3 +A8449G	0.069	0.284	0.063	0.000	0.001		<u>1.000</u>	<u>1.000</u>	<u>1.000</u>	<u>0.967</u>
IVS3 +C8497T	0.159	0.062	0.291	0.069	0.037	0.046		<u>1.000</u>	<u>0.763</u>	<u>1.000</u>
TAA +A2109G	0.061	0.241	0.055	0.001	<u>0.892</u>	<u>0.901</u>	0.042		<u>1.000</u>	<u>1.000</u>
TAA +A2274G	0.024	0.266	0.030	0.484	0.011	0.014	0.035	0.014		<u>1.000</u>
TAA +G2287A	0.070	0.284	0.063	0.000	<u>0.800</u>	<u>0.934</u>	0.046	<u>0.989</u>	0.014	

連鎖不平衡解析の結果、D'値(表右上)が有意且つ0.7以上を示す多型の組み合わせを、下線で表し、さらにr²値(表左下)も有意且つ0.5以上である組み合わせに関しては、太斜字で表している。

表6において、上から順にA118Gを「SNP1」、IVS+G691Cを「SNP2」、・・・、TAA+G2287Aを「SNP10」とすると、SNP1とSNP2との連鎖不平衡を計算し、その値をSNP1の行とSNP2の列の交わったセル(表右上側)に記している。連鎖不平衡の指標D'>0.7以上の値を下線で示している。また、連鎖不平衡のより厳しい指標であるr²値においても同様に計算し、SNP1の行とSNP2の列の交わったセル(表右下側)に記す。

【0036】

表6のD'に着目すると、IVS3+G5953AとTAA+A2274Gを除き、全てのSNPの組み合わせにおいて、有意な連鎖不平衡が確認されている。また、r²値に着目すると、イントロン3と3'非翻訳領域の3つのSNPにおいて有意な連鎖不平衡が確認でき、そのうちの1つはTAA+A2109Gである。

【0037】

また、本発明においては、繰り返し多型と各SNPの連鎖不平衡を解析することもできる。例えば表3に示す繰り返し多型は多様性を示すが、表6に示す10SNPの全てとの間で有意な連鎖不平衡を確認することができた(P<0.05)。

【0038】

さらに、本発明においては、連鎖不平衡解析を行った結果(表6)から4つのハプロタイプブロックを推定することができる。ハプロタイプブロックは、ハプロタイプ解析の結果から、例えば、HaploBlockFinder Version 0.6を用いて連鎖ブロックを推定することができる(<http://cgi.uc.edu/cgi-bin/kzhang/haploBlockFinder.cgi>)。

【0039】

この推定により、表6のSNPは、A118Gを含むブロック、IVS2+G691CとIVS3+G5807Aを含むブロック、IVS3+G5953Aを含むブロック及びIVS3+A6151G以降のSNPからなるブロックの4つのハプロタイプブロックに分類することができる。

【0040】

推定されたハプロタイプブロック中の特定のSNPを調べると、間接的に同一ブロック内

で連鎖しているSNPの情報を知ることができる。つまり、 μ オピオイド受容体の遺伝子多型を調べる際に、すべてのSNPを解析する必要はなく、特定のいくつかのSNPについてのミタイピングを行えばよい。

【0041】

4. μ オピオイド受容体遺伝子多型と薬物感受性との相関

μ オピオイド受容体の遺伝子に多型が生じると、 μ オピオイド受容体発現量や機能が変化すると考えられる。従って、 μ オピオイド受容体遺伝子多型と、 μ オピオイド受容体に関するさまざまな表現型とは相関関係にある場合がある。ここで、表現型とは、疾患の発症に関する表現型と、薬物の感受性に関する表現型とを挙げることができる。疾患の発症に関する表現型としては、疼痛感受性、薬物依存への脆弱性等が挙げられ、薬物の感受性に関する表現型としては、薬物の有効性、薬物の副作用、薬物の有効持続期間等が挙げられる。

【0042】

μ オピオイド受容体遺伝子多型と、表現系との相関は以下のように調べることができる。 μ オピオイド受容体遺伝子多型は、健常人における連鎖不平衡解析・ハプロタイプ解析の結果、推定された連鎖ブロック内の代表的な多型、例えばSNPを選択する。次に、被験（患者）個体におけるこの多型（例えばSNP）についての多型頻度を解析し、健常人の多型頻度との比較を行う。比較においては χ^2 乗検定などの統計手法を用いることが有効である。

【0043】

表現系又は症状が覚醒剤精神病様症状の場合、例えば、覚醒剤の使用開始から妄想・幻覚を発症するまでの期間、使用停止後に妄想・幻覚が持続する期間、再燃性の有無、多剤乱用の有無で分類できる。そして、各分類毎に、健常人と対象者の多型頻度や遺伝子型を比較する。その結果、対照群と多型頻度に有意差のあった多型は、疾患へのかかりやすさや、薬物感受性の差を評価するのに用いることができる。ただし、遺伝子多型の傾向は、人種や出身地等に影響されることが示唆されているため、関連する多型（例えばSNP）を見出すのに用いた母集団と同様な遺伝子多型を示す集団において、当該多型を用いる上記評価を行うことが望ましい。

【0044】

5. 解析結果の利用

上記のように解析された結果は、 μ オピオイド受容体に関するさまざまな薬物の感受性を予測する方法、 μ オピオイド受容体に関する疾患の治療又は予防法を選択する方法、又は治療用の薬物の適正投与量を決定する方法、副作用を予測する方法などの指標として利用することができる。なお、本発明のオリゴヌクレオチド又はマイクロアレイを用いて個々人の遺伝子型を判定することにより、薬物感受性を予測評価することが可能となる。

【0045】

μ オピオイド受容体に関する薬物としては、メタンフェタミン等の覚醒剤、ドパミン受容体作動薬、ドパミン受容体拮抗薬、 μ 、 κ 、 δ オピオイド受容体作動薬、 μ 、 κ 、 δ オピオイド受容体拮抗薬、アルコール等を挙げることができる。例えば、メタンフェタミン、メチレンジオキシメタンフェタミン、アンフェタミン、デキストロアンフェタミン、ドパミン、モルヒネ、DAMGO、コデイン、メサドン、カルフェンタニール、フェンタニール、ヘロイン、コカイン、ナロキソン、ナルトレキソン、ナロルフィン、レバロルファン、ペンタゾシン、ブプレノルフィン、オキシコドン、ヒドロコドン、レボルファノール、エトルフィン、ジヒドロエトルフィン、ヒドロモルホン、オキシモルホン、エタノール、メタノール、ジエチルエーテル及びトラマドール等を挙げることができる。

【0046】

また、本発明の遺伝子多型又は方法を用いて、人種の違いによる薬物の感受性等を評価することが可能である。対象者は特に限定されるものではなく、日本人、欧米人などが挙げられるが、本発明においては日本人又は日本人と同様の遺伝子多型傾向を有する者であることが好ましい。

【0047】

ところで、モルヒネは鎮痛薬として用いられるが、呼吸抑制作用も有するために、その投与用量の決定は、慎重に行う必要がある。本発明により明らかとなった新規遺伝子多型とモルヒネ感受性との相関を解析し、どの多型を有する個体がどのようなモルヒネ感受性を有するのかを予め定めておくと、モルヒネ投与対象患者の μ オピオイド受容体遺伝子多型を調べることで、当該患者のモルヒネ感受性を明らかにして投与量を決定することができる。

【0048】

被験対象者からのゲノムサンプルは、血液、唾液、皮膚等から抽出することができるが、ゲノムサンプルを採取できるものであれば、これに限定されるものではない。ゲノムDNAの抽出及び精製法は周知である。例えば、ヒトから採取した血液、唾液、皮膚等の検体から、フェノール法等を用いてゲノムDNAを精製する。その際、GFX Genomic Blood DNA Purification Kit等の市販のゲノムDNA抽出キットや装置を用いてもよい。調査するSNPがオープンリーディングフレーム中にある場合は、ゲノムDNAの代わりにmRNAやtotal RNAを抽出してもよい。以下、上記の被験サンプルの遺伝子多型検出法の一例を示す。

(1) PCR法を用いた検出

PCRにより被験サンプルを増幅するには、Fidelityの高いDNAポリメラーゼ、例えば、KOD Dashポリメラーゼ(TOYOBO社)を用いることが好ましい。用いるプライマーは、被験サンプル中の対象SNPを増幅できるようにプライマーの任意の位置に遺伝子多型が含まれるように設計し合成する。

【0049】

増幅反応終了後は、増幅産物の検出を行い、多型の有無を判定する。

(2) 塩基配列決定法による検出

本発明においては、ジデオキシ法に基づく塩基配列決定法により本発明の多型を検出することもできる。塩基配列決定に用いるシーケンサーには、市販のABIシリーズ(アマシャムバイオサイエンス)を用いる。

(3) DNAマイクロアレイによる検出

DNAマイクロアレイは、支持体上にヌクレオチドプローブが固定されたものであり、DNAチップ、Gene チップ、マイクロチップ、ビーズアレイなどを含む。

【0050】

まず、被験サンプルのポリヌクレオチドを単離し、PCRにより増幅し、蛍光レポーター基により標識する。続いて、標識化DNA/mRNA, total RNAをアレイと共にインキュベートする。次にこのアレイをスキャナーに差し込み、ハイブリダイゼーションパターンを検出する。ハイブリダイゼーションのデータは、プローブアレイに結合した(すなわち標的配列に取り込まれた)蛍光レポーター基からの発光として採集する。標的配列と完全に一致したプローブは、標的配列と一致していない部分を有するものよりも強いシグナルを生じる。アレイ上の各プローブの配列及び位置は分かっているため、相補性によって、プローブアレイと反応させた標的ポリヌクレオチドの配列を決定することができる。

(4) TaqMan PCR法による検出

TaqMan PCR法は、蛍光標識したアレル特異的オリゴとTaq DNAポリメラーゼによるPCR反応とを利用した方法である。TaqMan PCR法で用いるアレル特異的オリゴ(TaqManプローブという)は、前記遺伝子多型情報に基づいて設計することができる。

(5) インベーター法による遺伝子多型の検出

インベーター法は、アレル特異的オリゴと鋳型とをハイブリダイゼーションすることにより遺伝子多型を検出する方法である。インベーター法を行うためのキットは市販されており、この方法により容易に遺伝子多型を検出することが可能である。

【0051】

6. キット

本発明において、ミューオピオイド受容体遺伝子多型(例えばSNP)部位を含むオリゴヌクレオチドは、遺伝子多型検出用キットに含めることができる。

【0052】

本発明の遺伝子多型検出用キットは、本発明を実施するために必要な1種以上の成分を含むものである。例えば、本発明のキットは、酵素を保存若しくは供給するためのもの、及び／又は遺伝子多型検出を実施するために必要な反応成分を含むものである。そのような成分としては、限定されるものではないが、本発明のオリゴヌクレオチド、酵素緩衝液、dNTP、コントロール用試薬（例えば、組織サンプル、ポジティブ及びネガティブコントロール用標的オリゴヌクレオチドなど）、標識用及び／又は検出用試薬、固相支持体、説明書などが挙げられる。また本発明のキットは、必要な成分のうちの一部のみを含む部分的キットであってもよく、その場合には、ユーザーが他の成分を用意することができる。

【0053】

本発明のキットは、上記オリゴヌクレオチドを支持体に固定したマイクロアレイとして提供することもできる。マイクロアレイは、支持体上に本発明のオリゴヌクレオチドが固定されたものであり、DNAチップ、Geneチップ、マイクロチップ、ビーズアレイなどを含む。

【0054】

本発明のキットは、本発明において見出された遺伝子多型を含むオリゴヌクレオチドを含む。従って、薬物を患者等に使用する前（例えば手術前、癌性疼痛時等）に採血してミューオピオイド受容体遺伝子を単離し、この遺伝子をキット中のオリゴヌクレオチドと反応させて遺伝子型を判定する。判定された遺伝子型から薬物の種類又は用量などの投与計画が作成される。その結果、個人に合った薬物効果を得ることができ、オーダーメイド医療に有用となる。例えばモルヒネを使用する場合は、個人に合った鎮痛効果を得、また副作用を最低限に抑えることができる。

【0055】

以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明は実施例に限定されるものではない。

【実施例1】

【0056】

SNP解析及びハプロタイプ構築

(1) 対象

本実施例は、薬物依存ゲノム解析研究グループ(Japanese Genetics Initiative for Drug Abuse(JGIDA))に所属する日本国内の精神病院（精神科）に入院中及び退院した、WHOの診断基準ICD-10 DCRでF15.2及びF15.5を示す、メタンフェタミン依存患者128名（男性99名、女性29名、平均年齢35.9±1.0歳）、並びに、主に医療従事者で過去及び家族に薬物依存歴がなく、また精神疾患を患っていない、健常人179名（男性139名、女性40名、平均年齢34.6±1.5歳）を対象に行った。

【0057】

また、健常人での多型頻度の解析の結果、エクソン1及びイントロン2において、これまでに報告されてきた多型頻度と非常に異なる頻度でSNPが観察されたため、この2領域に関しては、健常人サンプルをそれぞれ34名並びに53名追加して、解析を行った。

【0058】

診断は、2人の精神科医による問診と、病院の記録を含めた入手可能な全ての情報を基に行われた。また、依存患者のうち、統合失調症、器質精神症候群、並びに他の精神性疾患を患った経歴のある患者は除外した。

【0059】

被験者は全て日本人であり、その出生及び居住地域は、北九州、瀬戸内、東海及び関東地方であった。

【0060】

本実施例は、JGIDAに所属する各機関での倫理審査にて承認を得た後、全ての対象者に、ゲノムサンプルを今回の研究に用いることに対しての、文書による同意を得て行った。

【0061】

(2) 覚醒剤精神病様症状における症例分類解析

臨床情報を基にメタンフェタミン依存患者を分類して行った解析では、患者を以下の4項目に関してグループに分け、解析を行った。

(A) Latency of psychosis (使用開始から妄想・幻覚が発症するまでの期間)

- ・3年以内に発症 (n=54, 平均年数=0.83年)
- ・3年以上経過後に発症 (n=53, 平均年数=9.98年)

(B) Prognosis of psychosis (使用停止後、妄想・幻覚が持続する期間)

- ・transient (n=72, 1ヶ月以内に消失)
- ・middle (n=17, 1ヶ月から6ヶ月で消失)
- ・prolong (n=26, 6ヶ月以上持続)

(C) Spontaneous relapse (再燃性の有 (n=86) 無 (n=42))

(D) Poly drug abuse (多剤乱用)

- ・none (n=36, メタンフェタミンの単独乱用)
- ・easily accessible drug only (n=49, アルコール、シンナーに乱用歴)
- ・heavy (n=43, モルヒネ、ヘロイン、大麻などに乱用歴)

また、メタンフェタミン依存患者のうち、各項目に関して臨床情報が得られなかった患者は、本解析から除外した。

【0062】

(3) Genotyping

ゲノムサンプルは、各対象者より採取した血液検体から、通常のフェノール抽出法を用いて精製した。すなわち、全血に対して3倍量の溶血試薬 (0.1 mM EDTA、155 mM NH_4Cl_2) を加え、室温で10分間放置した後、遠心し、沈殿を再懸濁させた後に、Proteinase K処理、RNase処理を行い、遠心して得られた上清から、フェノール・クロロホルム抽出をし、さらにエタノール沈殿を経て、ゲノムDNAを調整した。ゲノムDNAを鋳型として、KOD Dash (TOYOBO、東京) を用いてPCR法を行い、エタノール沈殿にて精製後、シークエンス用の鋳型DNAとした。

【0063】

μ オピオイド受容体遺伝子の5'側非翻訳領域 (5' UTR 並びに5' flanking region) は、開始コドンより上流5765 bpまでの領域を2つのPCR増幅 (-5765~-2272、-2612~421) を行うことで、目的とする全域を増幅した。エクソン1、エクソン2-3 (イントロン2を含む)、エクソン4 (終止コドンより下流2952 bpを含む)、さらにイントロン1及び3の一部は、それぞれの箇所別にPCR法によりDNA断片の増幅を行った (増幅領域は図1参照)。3'側非翻訳領域 (3' UTR及び3' flanking region) は、終止コドンより下流13830 bpまでの領域を、4つのPCR増幅 (TAA+2004~6288、4980~10376、8292~12120、11260~14677) を行うことで、目的とする全域を増幅した。これらのPCR産物を鋳型として、Big Dye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Ready Reaction (アプライドバイオシステム、東京) を用いたシークエンス法により塩基配列を解読し、遺伝子多型の解析を行った。

【0064】

まず初めに、健常人のゲノムサンプル44例を使用し、増幅したPCR断片の全領域を、計152本のプライマーを用いて、 μ オピオイド受容体遺伝子上に高頻度で見られる多型を見いだした。次に全エクソン領域と、高い頻度 (Allelic frequency > 5%) で観察される多型を含む領域に関して、残りの健常人サンプル及びメタンフェタミン依存患者サンプルのゲノムDNAを用いて、 μ オピオイド受容体遺伝子の多型解析を行った。プライマーは、National Center of Biotechnology Information (Genbank Accessions no. NT-023451) にて公開されている遺伝子配列を参照にして、設計を行った。

【0065】

(4) 統計解析

健常人とメタンフェタミン依存患者のサンプル間での多型頻度の有意差検定は、カイ二乗検定を用いて行った (有意水準 $\alpha = 0.05$)。また、全ての多型に関して、サンプルの偏

りを確認するために、カイ二乗検定を用いてHardy-Weinberg (HW) 平衡の検討を行った。連鎖不平衡解析及びハプロタイプ解析においては、健常人179例とメタンフェタミン依存患者128例の遺伝子型情報を、Arlequin program (<http://anthro.unige.ch/arlequin>で入手) (Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin 2000: a software for population genetics data analysis. Ver 2.000. Genetics and Biometry Lab, Dept of Anthropology Univ of Geneva.)を用いて解析した。そして、連鎖不平衡の尺度を示す値であるD'値及び r^2 値を、前記の定義に基づき算出した。

【0066】

繰り返し多型における、健常人とメタンフェタミン依存患者サンプルの多型頻度の有意差は、モンテカルロ法を基に作製されたCLUMP program (Sham PC, Curtis D. Monte Carlo tests for associations between disease and alleles at highly polymorphic loci. Ann Hum Genet, 59, 97-105, (1995))を用いて行った。

【0067】

ハプロタイプ解析の結果から、HaploBlockFinder Version 0.6を用いて連鎖ブロックを推定した。

【実施例2】

【0068】

日本人ゲノムにおける μ オピオイド受容体遺伝子多型の解析

μ オピオイド受容体遺伝子多型を同定するため、日本人健常人のゲノムDNAを用いて、全エクソン領域、イントロン領域の一部、さらに3'及び5'の非翻訳領域に関して、PCR増幅の後、配列の解読を行った。全エクソン領域及びイントロン領域の一部については、図1のゲノム模式図下の7本の線で示した領域に関して多型解析を行った。また、118G、1VS2+G691C、intron3から3' UTR下流約4 kbp付近まで広範囲で見られる完全連鎖不平衡を示すSNP群、並びに二塩基繰り返し多型IVS3+6113 (GT)₁₁₋₁₅ (実施例3)と32塩基繰り返し多型のIVS3+8761 (32bp)₂₋₁₇ (実施例3)に関して、健常人サンプルの多型頻度から連鎖不平衡解析を行い、有意に連鎖不平衡の関係にある多型間でのD'値を図1中に示した($P<0.05$)。

【0069】

解読を行った領域において、表1の36個、表3の2個の計38の新規遺伝子多型と、既に他人種を用いた研究にて報告されている3つのSNP (A118G, IVS2+G31A, IVS2+G691C)を、日本人ゲノム上に見いだした (前述の表1)。

【0070】

日本人で見られた表1の39のSNPのうち、transversion変異が37で大半を占め、transition変異は2箇所 (IVS2+G691C, TAA+G2395C)であった。また、これら全ての多型は、HW平衡にあったことから、集めたサンプルに偏りがないことも確認された。本実施例の日本人のゲノム上では、5'非翻訳領域にて14のSNPが確認されたが、これまでに同じ領域で報告されていた24のSNPは見られなかった。

【0071】

さらに、A118GとIVS2+G691Cの二つのSNPに関しては、その多型頻度 (表1「Allelic frequency」)は、日本人ゲノムではそれぞれ45.3%と81.9%であり、これまで欧米人のゲノムを中心に報告されてきた多型頻度 (表1「Reported Allelic frequency」)ではそれぞれ7.5-25.8%と42.5-53.3%であり、日本人ゲノムにおいて著明に高い頻度で観察された (Hoehe MR, Kopke K, Wendel B, Rohde K, Flachmeier C, Kidd KK, et al. Sequence variability and candidate gene analysis in complex disease: association of mu opioid receptor gene variation with substance dependence. Hum Mol Genet, 9, 2895-908, (2000))。

【0072】

また、他人種を用いた研究で以前に高い多型頻度で報告されていた、C17Tなどのその他の翻訳領域に存在するSNPも観察されなかった (Hoehe MR, Kopke K, Wendel B, Rohde K, Flachmeier C, Kidd KK, et al. Sequence variability and candidate gene analysis i

n complex disease: association of mu opioid receptor gene variation with substance dependence. Hum Mol Genet, 9, 2895-908, (2000)、Bond C, LaForge KS, Tian M, Melia D, Zhang S, Borg L, et al. Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. Proc Natl Acad Sci U S A, 95, 9608-13, (1998)、Bergman AW, Kokoszka J, Peterson R, Long JC, Virkkunen M, Linnoila M, et al. Mu opioid receptor gene variants: lack of association with alcohol dependence. Mol Psychiatry, 2, 490-4, (1997)、Sander T, Gscheidel N, Wendel B, Samochowiec J, Smolka M, Rommelspacher H, et al. Human mu-opioid receptor variation and alcohol dependence. Alcohol Clin Exp Res, 22, 2108-10, (1998)、Gelernter J, Kranzler H, Cubells J. Genetics of two mu opioid receptor gene (OPRM1) exon 1 polymorphisms: population studies, and allele frequencies in alcohol- and drug-dependent subjects. Mol Psychiatry, 4, 476-83, (1999)、Franke P, Wang T, Nothen MM, Knapp M, Neidt H, Albrecht S, et al. Nonreplication of association between mu-opioid-receptor gene (OPRM1) A118G polymorphism and substance dependence. Am J Med Genet, 105, 114-9, (2001)、Shi J, Hui L, Xu Y, Wang F, Huang W, Hu G. Sequence variations in the mu-opioid receptor gene (OPRM1) associated with human addiction to heroin. Hum Mutat, 19, 459-60, (2002)、Schinka JA, Town T, Abdullah L, Crawford FC, Ordorica PL, Francis E, et al. A functional polymorphism within the mu-opioid receptor gene and risk for abuse of alcohol and other substances. Mol Psychiatry, 7, 224-8, (2002))。

【0073】

また興味深いことに、イントロン3及び3'非翻訳領域に見られたSNPのうち、一部において多型がほぼ同時に観察され、連鎖不平衡解析においてD'値1.000を示した。そこで、この連鎖不平衡ブロックのサイズを検討するため、例数を減らし(3 genotypeに関して各5例ずつ)、終止コドン(TAA)より下流約14 kbpまで解析範囲を広げたところ、さらに新たに57の遺伝子多型を見いだした。 μ オピオイド受容体遺伝子3'非翻訳領域で見出した多型とその連鎖不平衡を前記表2に示した。

【0074】

新たに見出した57遺伝子多型のうち24の遺伝子多型は、上述の連鎖不平衡にある多型群と同時に確認され、連鎖不平衡解析においてD'値並びに r^2 値が共に1.000を示す完全連鎖不平衡の関係にあった(表2中、「*」印)。

【実施例3】

【0075】

μ オピオイド受容体遺伝子多型におけるハプロタイプ解析と連鎖不平衡解析

実施例2で見いだした多型のうち、多型頻度が5%以上であった10箇所のSNPに関して、Arlequin programを用いてハプロタイプを推定した(前記表5)。ハプロタイプを推定する際、多型頻度が5%以上であるSNPのうち、intron 3から3'非翻訳領域にかけて存在する完全連鎖不平衡を示すSNP群に関しては、そのうちの1つTAA+A2109Gを代表とした。Arlequin programにより、34のハプロタイプが推定され、そのうち3%以上の高頻度でみられるものは7ハプロタイプあった(表5、No.1~7)。頻度が3%以下(残りの27ハプロタイプ、全体の16.1%に相当)に関しては、N0.8にまとめて示した。

【0076】

上述のTAA+A2109GのG alleleは、5番のハプロタイプでのみ見られ、他のいくつかのSNPも同様の傾向があった。

【0077】

次に、得られたハプロタイプ頻度を基に連鎖不平衡解析を行った(前記表6)。

【0078】

表6では、連鎖不平衡解析の結果、D'値(表右上)が有意且つ0.7以上を示す多型の組み合わせを下線で表し、さらに r^2 値(表左下)も有意且つ0.5以上である組み合わせに関

しては太斜字で表した。上で定義したようにD'値を算出したところ、IVS3+G5953A又はTAA+A2274Gに関わるいくつかの組み合わせを除き、全てのSNPの組み合わせにおいて、有意な連鎖不平衡が確認された（表6）。

【0079】

また、より厳しい指標である r^2 値において、intronと3'非翻訳領域の3つのSNPにおいて有意な連鎖不平衡が観察され、その3つのSNPのうちの1つは上述した完全連鎖不平衡を示す多型群の一つであるTAA+A2109Gであった（表6）。

【0080】

また、ハプロタイプ解析の結果から、4つの連鎖ブロックが推定された。

【0081】

さらに、 μ オピオイド受容体遺伝子上において、SNP以外のいくつかの塩基繰り返し多型を新たに見いだした。イントロン3内で、二塩基繰り返し多型IVS3+6113(GT)₁₁₋₁₅、及び32塩基の繰り返し多型IVS3+8761(32bp)₂₋₁₇が観察された（前記表3）。

【0082】

これらの繰り返し多型は非常に多様性があつたものの、表6に示す10個のSNP全てとの間で有意な連鎖不平衡が確認された（ $P < 0.05$ ）。

【実施例4】

【0083】

μ オピオイド受容体遺伝子多型とメタンフェタミン依存・覚醒剤精神病様症状との相関
 μ オピオイド受容体遺伝子多型と、メタンフェタミン依存・覚醒剤精神病様症状との相関を検討するため、健常人における連鎖不平衡解析・ハプロタイプ解析の結果（実施例3）より、5%以上の多型頻度で、推定された連鎖ブロック内のSNPを代表する4箇所のSNP（A118G, IVS2+G691C, IVS3+A6151G, IVS3+G8497T）を選択した。

【0084】

まず、全メタンフェタミン依存患者における多型頻度を解析し、健常人の多型頻度との比較を行った（表7）。

【0085】

【表7】

： 健常人とメタンフェタミン依存患者における μ オピオイド受容体遺伝子多型の多型頻度の比較

Locus	健常人		Allelic data	メタンフェタミン依存患者			
	Genotypic data number	allelic frequency		Genotypic data number	allelic frequency	P value	Allelic data number P value
A118G	A 67 (0.31)	45.3%	A 233 (0.55)	A 49 (0.38)	40.6%	P=0.43	A 152 (0.59)
	A/G 99 (0.46)		G 193 (0.45)	A/G 54 (0.43)			G 104 (0.41)
	G 47 (0.22)			G 25 (0.19)			
	total 213		total 426	total 128			total 256
IVS2+G691C	G 6 (0.03)	81.9%	G 84 (0.18)	G 12 (0.09)	73.8%	P=0.012	G 67 (0.26)
	G/C 72 (0.31)		C 380 (0.82)	G/C 43 (0.33)			C 189 (0.74)
	C 154 (0.66)			C 73 (0.57)			
	total 232		464	total 128			total 256
IVS3+A6151G	A 2 (0.01)	92.5%	A 27 (0.08)	A 1 (0.01)	89.1%	P=0.21	A 28 (0.11)
	G/A 23 (0.13)		G 331 (0.92)	G/A 26 (0.20)			G 228 (0.89)
	G 154 (0.86)			G 101 (0.79)			
	total 179		total 358	total 128			total 256
IVS3+C8497T	C 85 (0.47)	31.3%	C 246 (0.69)	C 73 (0.57)	26.6%	P=0.209	C 188 (0.73)
	C/T 76 (0.42)		T 112 (0.31)	C/T 42 (0.33)			T 68 (0.27)
	T 18 (0.10)			T 13 (0.10)			
	total 179		total 358	total 128			total 256

表7は、健常人との比較で、有意に多型頻度が異なっていたもののみを記載した。メタンフェタミン依存患者において、IVS2+G691Cの多型頻度は73.8%であり、健常人の81.9%と比較してその頻度は低く、遺伝子型（genotype）は有意に異なっており（ $P=0.023$ カイ二乗検定）、Allele頻度の比較においてもC alleleが多く、有意に健常人と異なっている（ $P=0.023$ カイ二乗検定）ことが明らかとなった。

【0086】

また、IVS3+A8497Gにおいても、メタンフェタミン依存患者において健常人よりもG alleleの割合が高い傾向が確認された。

【0087】

次に、上記の4 SNPについて、メタンフェタミン依存患者の遺伝子多型情報から、Arlequin programを用いてハプロタイプを推定し（表8）、そのハプロタイプ頻度を基に連鎖不平衡解析を行い、健常人と比較した（表9）。

【0088】

【表8】

健常人とメタンフェタミン依存患者におけるμオピオイド受容体遺伝子多型のハプロタイプ頻度の比較

	Control	MAP dependent	Haplotype			
	frequency	frequency	A118G	IVS2 +G691C	IVS3 +A6151G	IVS3 +C8497T
1	1.4%		A	C	A	C
2	0.2%		A	C	A	T
3	10.9%	11.0%	A	C	G	C
4	24.3%	23.2%	A	C	G	T
5	5.7%	10.9%	A	G	A	C
6	9.2%	12.7%	A	G	G	C
7	1.7%	1.5%	A	G	G	T
8	40.0%	37.8%	G	C	G	C
9	4.9%	1.8%	G	C	G	T
10	0.3%		G	G	A	T
11	1.5%	0.9%	G	G	G	C

【0089】

【表9】

健常人とメタンフェタミン依存患者におけるμオピオイド受容体遺伝子多型間の連鎖不平衡の比較

		D'			
Locus		A118G	IVS2 +G691C	IVS3 +A6151G	IVS3 +C8497T
r ²	A118G		<u>0.795</u> <u>0.897</u>	<u>0.866</u> <u>1.000</u>	<u>0.633</u> <u>0.794</u>
	IVS2 +G691C	0.125 0.195		<u>0.746</u> <u>1.000</u>	<u>0.775</u> <u>0.739</u>
	IVS3 +A6151G	0.054 0.084	0.201 0.346		<u>1.000</u> <u>1.000</u>
	IVS3 +C8497T	0.159 0.156	0.062 0.071	0.037 0.044	

連鎖不平衡解析の結果、D' 値（表右上）が有意且つ0.7以上を示す多型の組み合わせを、下線で表している。表の各組み合わせの、上の数値が健常人、下の数値がメタンフェタミン依存患者のゲノムにおける、連鎖不平衡解析の結果を表す。

表9は、健常人とメタンフェタミン依存患者におけるμオピオイド受容体遺伝子多型間の連鎖不平衡解析の結果を示し、D' 値（表右上）が有意且つ0.7以上を示す多型の組み合わせを下線で示す。表9の各組み合わせの上の数値が健常人、下の数値がメタンフェタミン依存患者のゲノムにおける結果を示す。また、4 SNPにおける連鎖不平衡解析では全ての組み合わせでD' 値は有意な値を示していたが、r²値はいずれも有意な値を示さなかった（図9）。

【0090】

健常人とメタンフェタミン依存患者間でハプロタイプ頻度に関して有意な差は見られなかった(P=0.40)ものの、表8のハプロタイプ5番及び6番において、健常人と比較してメタンフェタミン依存患者の多型頻度が高い傾向を示した。この5番と6番の両ハプロタイプの違いは、intron 3から3' 非翻訳領域にかけて存在する完全連鎖不平衡を示すSNP群のうちの一つであるIVS3+A6151Gのalleleタイプのみの違いであった。

【0091】

従って、他の薬物に対する依存並びに疼痛治療等においてさらなるハプロタイプ解析が有用な差を示す可能性があると言える。

【実施例5】

【0092】

覚醒剤精神病様症状における症例分類解析

本実施例では、健常人と、覚醒剤精神病様症状により分類したメタンフェタミン依存患者との間での μ オピオイド受容体遺伝子多型の多型頻度を比較した。

【0093】

メタンフェタミン依存患者を、臨床情報を基に、覚醒剤精神病様症状の症例によって実施例1に記載したように分類し、解析を行った。解析は、実施例3の連鎖不平衡解析から推定される連鎖ブロックを代表する4箇所のSNP(A118G, IVS2+G691C, IVS3+A6151G, IVS3+G8497T)全てで行った。そのうち、有意に健常人と多型頻度が異なっている群が存在した多型のみを表10に記載した。

【0094】

【表10】

健常人と覚醒剤精神病様症状により分類したメタンフェタミン依存患者間の μ オピオイド受容体遺伝子多型の多型頻度の比較

Locus	健常人		メタンフェタミン依存患者			
	例数	多型頻度	group 1 例数 多型頻度	group 2 例数 多型頻度	group 3 例数 多型頻度	
(1)妄想・幻覚の発症時期			3年未満	3年以上		
A118G	A	67 (0.31)	25 (0.46)	20 (0.38)		
	A/G	99 (0.46) 45.3%	24 (0.44) 31.5% P=	25 (0.47) 38.7% P=		
	G	47 (0.22)	5 (0.09) 0.0404	8 (0.15) 0.4691		
	total	213	54	53		
IVS2 +G691C	G	6 (0.03)	6 (0.11)	5 (0.09)		
	G/C	72 (0.31) 81.9%	20 (0.37) 70.4% P=	19 (0.36) 72.6% P=		
	C	154 (0.66)	28 (0.52) 0.0085	29 (0.55) 0.0394		
	total	232	54	53		
IVS3 +A6151G	A	2 (0.01)	0 (0.00)	1 0.019		
	G/A	23 (0.13) 92.5%	15 (0.28) 86.1% P=	7 0.132 91.5% P=		
	G	154 (0.86)	39 (0.72) 0.0269	45 0.849 0.9060		
	total	179	54	53		
(2)妄想・幻覚の持続期間			transient	middle	prolonged	
IVS2 +G691C	G	6 (0.03)	8 (0.11)	0 (0.00)	3 (0.12)	
	G/C	72 (0.31) 81.9%	27 (0.38) 70.1% P=	5 (0.29) 85.3% P=	8 (0.31) 73.1% P=	
	C	154 (0.66)	37 (0.51) 0.0034	12 (0.71) 0.7807	15 (0.58) 0.0596	
	total	232	72	17	26	
(3)再燃性の存在			not exist	exist		
IVS2 +G691C	G	6 (0.03)	6 (0.07)	5 (0.12)		
	G/C	72 (0.31) 81.9%	30 (0.35) 75.6% P=	14 (0.33) 71.4% P=		
	C	154 (0.66)	50 (0.58) 0.1250	23 (0.55) 0.0143		
	total	232	86	45		
(4)多剤乱用			none	easily accesible drug	heavy	
IVS2 +G691C	G	6 (0.03)	5 (0.14)	3 (0.06)	1 (0.02)	
	G/C	72 (0.31) 81.9%	11 (0.31) 70.8% P=	15 (0.31) 78.6% P=	18 (0.42) 76.7% P=	
	C	154 (0.66)	20 (0.56) 0.0059	31 (0.63) 0.4401	24 (0.56) 0.3801	
	total	232	36	49	43	
IVS3 +C8497T	C	85 (0.47)	24 (0.67)	24 (0.49)	22 (0.51)	
	C/T	76 (0.42) 31.3%	6 (0.17) 25.0% P=	22 (0.45) 28.6% P=	17 (0.40) 29.1% P=	
	T	18 (0.10)	6 (0.17) 0.0137	3 (0.06) 0.6986	4 (0.09) 0.9104	
	total	179	36	49	43	

(1) 覚醒剤の使用開始から妄想・幻覚を発症するまでの期間で分類したところ、3年以内に発症した群において、健常人と比較して、3箇所のSNP(A118G、IVS2+G691C、IVS3+A6151G)の多型頻度が低い値を示し、遺伝子型が有意に異なっていた(それぞれ、 $P=0.040$ 、 $P=0.0085$ 、 $P=0.027$)。IVS2+G691Cに関しては、メタンフェタミン使用開始から3年以上経過した後に、妄想・幻覚が発症した群においても同様に、健常人と比較して有意に遺伝子型が異なっていた($P=0.039$)が、発症までの期間が短い群の方が、より大きく異なる傾向を示した。

【0095】

(2) 覚醒剤の使用停止から妄想・幻覚が消失するまでの期間で分類したところ、1ヶ月以内に比較的速やかに消失した群において、IVS2+G691Cの多型頻度が低い値を示し、健常人と比較して有意に遺伝子型が異なっていた($P=0.0034$)。

【0096】

(3) 再燃性の有無に関して分類した場合も、再燃性が見られた群において、同様にIVS2+G691Cの多型頻度が低い値を示し、健常人と比較して有意に遺伝子型が異なっていた(

P = 0.014)。

【0097】

(4) 多剤乱用を指標として分類し、解析を行ったところ、メタンフェタミンにのみ乱用歴があった群において、2箇所のSNP (IVS2+G691C、IVS3+C8497T) の多型頻度が低い値を示し、健常人と比較して有意に遺伝子型が異なっていた (P=0.0059、P=0.014)。

【0098】

日本人サンプルにおいて、翻訳領域に存在する多型は、エクソン1に存在し、アスパラギンがアスパラギン酸に変化するA118Gのみであった。このアスパラギンは、7回膜貫通型受容体である μ オピオイド受容体のN末端に存在する5箇所のglycosylation部位のうちの1箇所と考えられている。

【0099】

本実施例において、A118Gの多型頻度は、健常人とメタンフェタミン依存患者との比較では、これまでの報告と同様に有意な差は見られなかったが(表7)、メタンフェタミン依存患者を覚醒剤精神病様症状により分類した際に、いくつかの群で健常人と比較し有意に多型頻度が異なっていた(表10)。

【0100】

メタンフェタミン依存患者を臨床情報を基に分類し解析したところ、妄想・幻覚の発現時期、持続期間並びに再現性の有無において、いくつかのSNPで健常人と比較して有意に多型頻度が低い群が見られた。このことは、メジャーalleleを持つ群の方が、メタンフェタミンによる覚醒剤精神病を発症し易いことを示している(表10)。

【0101】

本発明は、 μ オピオイド受容体の遺伝子多型、特にIVS2+G691Cが、メタンフェタミン依存並びに覚醒剤精神病における脆弱性に関する有用な遺伝子マーカーの1つと考えられることを示している。また、 μ オピオイド受容体を介した作用における様々な個人差には、翻訳領域以外の遺伝子多型による μ オピオイド受容体発現に対する何らかの調節機構の違いが大きく寄与していることを示すものである。

【図面の簡単な説明】

【0102】

【図1】 ミューオピオイド受容体遺伝子の概略図である。

【配列表フリーテキスト】

【0103】

配列番号18：nはacのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号27：nはgtの11~15回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号31：nはattatcatattatgacatatatcataatatatの2~17回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号52：nはaのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号58：nは322bpの配列又は欠失を示す(存在位置51)。

配列番号60：nはa又は欠失を示す(存在位置51)。

配列番号66：nはaのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号74：nはaのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号81：nはcaのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

配列番号83：nはtctc又は欠失を示す(存在位置51)。

配列番号86：nはtttcの挿入を示す又は何も表さない(存在位置51)。

配列番号97：nはtのm回の繰り返しを示す(存在位置51)。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Tokyo Metropolitan Organization for Medical Research

<120> A method of evaluating drug sensitivity with analyses of mu
opioid receptor gene

<130> P04-030

<160> 98

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 1

gttcaactgc taataacctta gcaggaatcg aaacagtgac cccatggcat rctaagagtc 60

actgtactct tcacagacgt gcactcacag aagaaaaaca c 101

<210> 2

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 2

actaaagtag aatgcttgte ccaaagaaaa gcgcatgttg cctgtttgag ytgtgaacta 60

aattaaccac tttttccgtg gatcactatt tttattttaa g 101

<210> 3

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 3

atgttgccctg tttgagctgt gaactaaatt aaccactttt tccgtggatc rctattttta 60

tttaaagaat gactgaggcc gggcgcggtg gctcacgcct g 101

<210> 4

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 4

ctgaggccgg gcgcggtggc tcacgcctgt aatcccagca ctttgggagg ytgaggcagg 60
cagatgacga ggtcaggaga tcgagaccat cctggctaac a 101

<210> 5

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 5

actcgggagg tggagcttgc agcgagctga gatcgcgcca ctgcactcca rcctgggcga 60
cagagtgaga ctctgtttta aaataaataa ataaataaaa t 101

<210> 6

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 6

ataaataaaa taaaatataa tgataaagaa atgtttttat agagctctca rttttaattt 60
ctgaagtgat agactgtgat aaagataacc taaataagaa a 101

<210> 7

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 7

taattcttct tgctaatttc taggccacat acaacaggat ataaaaagcc maacaacaaa 60
ggataaattc tttcatatgt gtgtaatcct ataaaccctc t 101

<210> 8

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 8

taaaatatat gctaatcatt ttttcaactg aattcaaata ttatgcacat kaatattcat 60
atatgtttta tatagaaaga aacacagaga gtgagggagg g 101

<210> 9
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 9
aaaatatatg ctaatcattt ttccaactga attcaaatat tatgcacatt matattcata 60

tatgtttaat atagaaagaa acacagagag tgaggaggagg a 101

<210> 10
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 10
ctaatcattt ttccaactga attcaaatat tatgcacatt aatattcata yatgtttaat 60

atagaaagaa acacagagag tgaggaggagg agtccactat g 101

<210> 11
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 11
aaaaatctat agtgttgtac tgagctccct ccaaagcaac tataaattta yaggagatga 60

aacatatgat tcaccaggca taagaagaaa gtttccgtaa t 101

<210> 12
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 12
tccacatgaa ctaagcacia aggaactgaa tgcaggcaga cagatttcag ytcaatataa 60

gagaattggtt acattagttc atggaagaat atgttttaag g 101

<210> 13
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 13
tg ttttctcat ttcttttttca gaaaataaag gatcgctggt gttcccaaca kg tttgtagg 60

gaagaaaatt ggagaaacat tattaccttt tcttagatgt t 101

<210> 14
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 14
tagggtttca tcaagccaat gtattccctg ccagatttta aggagaaaaa kgcgctggaa 60

aattgagtga tg ttagcccc ctttcttatt tttcaactgct a 101

<210> 15
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 15
ccccagcacc cagccccggt tcctgggtca acttgtecca cttagatggc racctgtccg 60

acccatgcgg tccgaaccgc accgacctgg gcgggagaga c 101

<210> 16
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 16
aatgaaaagg cagaaaaatt agccccaaaa gagatgaaac tcttccgtcc rtcaccattg 60

actctattgt gaacttatga aaaaggtagt tgagcaatat g 101

<210> 17
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 17
gaacttatga aaaaggtagt tgagcaatat gaaggccatg atgtggaatt raacacacac 60

acacacacac acacacacac acacacatgc tggatttctaa a 101

<210> 18
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents m repeats of ac

<400> 18
acttatgaaa aaggtagttg agcaatatga aggccatgat gtggaattaa natgctggat 60

tctaaaaatgt gtccttcctc ctctcactct cttgatcagt t 101

<210> 19
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 19
acagaggtaa tttattttagt ctggcttcac ttaacacaaa taggtcaaaa rcaatcacat 60

tttgtaagta gtaatagttg gagaaatgtg tgaagaatag g 101

<210> 20
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 20
gggtcaaaaga taaataagaa ttatttttata accataagaa aggaagaaca kctataaaca 60

aaagtcatat atgcaacata aaagaatagg tgagctgcca g 101

<210> 21
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 21
ttctggaagt tccataaaaa tcactctaata ggggtcaaaca tcgatgggttc kcagaagaac 60

acaatttttt tcaaaaacga atagcattgt aaattcattt g 101

<210> 22
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 22
tacaacaaaa tacaggcaag gtgagtgatg ttaccagcct gaggggaagga rggttcacag 60
cctgatatgt tggatgatgtc ataagcaaag cagtatttat g 101

<210> 23
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 23
tttatatcaa tatagacctc atggaggatc tagctcatgt tgagaggttc rtttttgttc 60
cctgaacgaa agcttaatgt gatcgaagtg gactgcaaaa t 101

<210> 24
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 24
ttccacaatt tctttatagc ctttaagttag ctctgggtcaa ggctaaaaat saatgagcaa 60
aatggcagta ttaacacctt atgacataat taaatgtttgc t 101

<210> 25
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 25
ctctaattac tattattaaa gcactttctt gacattttaa tcaaaatagc rgggtcaagaa 60
gttaggagat gctctgtatt tggtttaact gtgaactata t 101

<210> 26
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 26
 acatcactct caaaagttag tctcagtttt ttttacaaga catctgtgga ragttaattt 60

 gggaaagtaa ttgtttcaat tcaatgggaa aaaaaactca a 101

<210> 27
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> misc-feature
 <222> (51)..(51)
 <223> n represents 11 to 15 repeats of gt

<400> 27
 atcaaaatgg ctattctttc agttctacag tttaaaaaga aaatgggttc ngcgtgtgat 60

 ataggcatgt ctctttttgc atgtatggaa ttagagtaaa t 101

<210> 28
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 28
 aaagaaaatg gttccgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgcg tgtgatatag rcattgtctct 60

 ttttgcattg atggaattag agtaaatgta ggtttaaaat t 101

<210> 29
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 29
 tgatatatat cataacatat tatatatatt attatgatat atatcataac rtgtattatc 60

 atattatgat atatatcata acatatatat tatcatatta c 101

<210> 30
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 30
 acatgtatta tcatattatg atatatatca taacatatat attatcatat yacgatatat 60

 atcataacat attatatatt atcatattat gatatatatc a 101

<210> 31
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<220>
 <221> misc-feature
 <222> (51)..(51)
 <223> n represents 2 to 17 repeats of attatcatattatgacatatatcataatatat

<400> 31
 tatgacatat cataatatat attatcatat tatgacatat cgtaatatat natcaaaaag 60

 tcacagagct catgcaagcc cagtcatecc cattgccagt g 101

<210> 32
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 32
 aatatatatt atcatattat gacatatatc ataatatata ttatcatatt rtgacatata 60

 tcataatata tatcaaaaag tcacagagct catgcaagcc c 101

<210> 33
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

<400> 33
 taaaatgtac tctttatttc tcaactgggttt ctccatactg caggctcccc reatattatt 60

 ttcttttttt aactcagctc agaatcctta tgcctttttga a 101

<210> 34
 <211> 101
 <212> DNA
 <213> Homo Sapiens

```

<400> 34
atctaggtag acagccaagt cagatggccc atgcctagaa gctctccatt ytgaactttt      60

gtcagcattg attaaaagaa tcaaatacct tgtagttatc t                                101

<210> 35
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 35
cagccaagtc agatggccca tgcctagaag ctctccattt tgaacttttg ycagcattga      60

ttaaaagaat caaatacctt gtagttatct atgatgatac a                                101

<210> 36
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 36
ttatgtggac tcaaccacg tatccagtag atgggaaaaa acaaaagcca raataagttt      60

tttagtgttt ctttctgatg aagtttcatg tttgcttgta a                                101

<210> 37
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 37
aacaaaagcc aaaataagtt ttttagtgtt tccttctgat gaagtttcat rtttgcttgt      60

aataatctcc atttctcaaa tattatgttc cataatagac a                                101

<210> 38
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 38
atgcttttca tgggctagga tggtttctcc caagagatga catagtattg yttttgctca      60

tcaggctggt tctcagcaat cattgtttct gcttaatacc a                                101

```

<210> 39
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 39
gctcctagta cgaattatct ggcatgttga gagcaacttt gtcttcaagt rggacctgat 60

ctatcttttt ccacaaatgt catgtgtgtg aacaagtttc t 101

<210> 40
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 40
attctaaagt aaataataaa taaggtcatt gtcaacgttt ttcattcaaa rccatTTTTT 60

aacgtaaat tgctagaacc accttccaat tccaaggcaa g 101

<210> 41
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 41
taataaataa ggtcattgtc aacgtttttc attcaaaacc attttttaac rtaaatTTgc 60

tagaaccacc ttccaattcc aaggcaagga gagacattac a 101

<210> 42
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 42
ctcaactgga tgggctaagg ttcttgataa aatctgaaga taaagaaaat sgaatattct 60

gcttttttct tccttctaatt ttcaccttg cctaaggatg a 101

<210> 43
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 43

ttttttcttcc ttctaatttc acccttgccct aaggatgaga tttctttccca sgttggtatc 60

ccagaaatgc agactgtagc tatggggcgg aagctttgtt t 101

<210> 44

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 44

ttgcctaagg atgagatttc ttcccagggtt ggtatccag aaatgcagac ygtagctatg 60

gggcggaagc tttgtttctt tacctgatca cttgctgtgg a 101

<210> 45

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 45

atttcttccc aggttgggtat cccagaaatg cagactgtag ctatggggcg raagctttgt 60

ttctttacct gatcacttgc tgtggaaatt ctagcttatt g 101

<210> 46

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 46

tccctctttc cttgccaatc attagaaagg aaagaagagg aaagagactc kctggagcac 60

tggtgagtct ctaggaccct gctatcctat cccaacaggg c 101

<210> 47

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 47

actggtgagt ctctaggacc ctgctatcct atcccaacag ggctgtcaga mggagaactc 60

ctaattgtggc catttgaaac acttctcaac attgaaatag a 101

<210> 48

<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 48
gaagtttttaa aataacctct tctaagacac ggctatgagt aggtaagaga kcattcattc 60

ccttcaataa tatgactgtg ttgataaaac tgataaccat t 101

<210> 49
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 49
aactgataac cattcacttg caaatgttat tattgaataa gtctcactta kctcatttaa 60

tattacccaa aagatgctaa caaattctgt ttcccacatt g 101

<210> 50
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 50
gccaaagcaa cctaagaata ggacatggta gcttaagttt ttcagcttct yaactggcca 60

cacacacaca agttgtgttt gtacaattct tgagggtcaat c 101

<210> 51
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 51
caaacaatat tactgtgttc taagcgcttc tgttactcga aaggggtctg rtccagaccc 60

caaaagaggg ttcttggacc tcatgcaaga aagaattcag g 101

<210> 52
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>

<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents m repeats of a

<400> 52
ggtttgtttt aagtaagcca ctttcctccc tgcaagtacc cacggagcag nggaggaaac 60

tttttcctgg gagcccacta atcacacagt gaacaaaagg c 101

<210> 53
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 53
taagaaagca aaggaataaa gaatggctac tccataggca gcgtagcccc magggctgct 60

ggttggctat ttttgtgggtt atttcttgat tataatgctaa a 101

<210> 54
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 54
gtcgtctctgg ttcaaacacc tctgacactt gaattacaaa tataaggacc rttgacactg 60

agatttttaag ggaggaaaaa cagattgaca gtggactaaa g 101

<210> 55
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 55
gcaaggtaag aatcaagtag aaatgataaa gggcaaggaa aaaagatgaa mgcttactca 60

tattaaccat tctaccattg gaattatttg ccaacacacc t 101

<210> 56
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 56
gacagtgggg aaaattcatc ttcatattgt cacatgcact gtaataggaa kgtttagcaa 60

aaaaaacctt ccagagaaag gtggtttcca atattaccta c 101

<210> 57
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 57
gcaaaaaaaaa ccttcagag aaagggtggtt tccaatatta cctacaactt scittgcaat 60
ttgatTTTTTg aaaggaccta aaagttgaaa acaggctatc a 101

<210> 58
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents a sequence having 322bp or deletion

<400> 58
taaagtTTTT atttaagttt gcattgccca ctaaggctag acatTTTTTT ngataaattc 60
acagggttac aaaataccaa acggaaatga gataagtggT a 101

<210> 59
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 59
ggcccggcta gacatTTTTT gataaattca cagggttaca aaataccaaa yggaaatgag 60
ataagtggta taaaccacag aagatatagg agaagagaaa a 101

<210> 60
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>

<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents a or deletion

<400> 60
tgagataagt ggtataaacc acagaagata taggagaaga gaaaaaaaaa ngaggaaata 60

aagaagacaa ctcttttcct aagagtcctgg gtaaaattga a 101

<210> 61
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 61
ggaaataaag aagacaactc ttttcctaag agtctgggta aaattgaaca yagccatatt 60

cactgaacaa catgagtgag cttcattaat ttaagcacag c 101

<210> 62
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 62
ccatattcac tgaacaacat gagtgagctt cattaattta agcacagcaa ractgcttta 60

attaacaaga ccagagagaa gggagaggag actacatttg t 101

<210> 63
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 63
gtgacatatt agacttctta ctttcccca aataaaaaagt gcctgctggg ygcggtggct 60

cacgcctgta attccagcac tttgggaggc cgaggcgggc g 101

<210> 64
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 64
gcgcggtggc tcacgcctgt aattccagca ctttgggagg ccgaggcggg yggaacacaa 60

ggtcaggaga tcaagaccat cctggccaat atggtaaaac c 101

<210> 65

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 65

atacaaaatt aggaaggcgt ggtgggtgcac gcctgtaatc ccagctagtc rggaggctga 60

ggcaggagaa ttgcttgaac tggggaggcg gaagttgcag t 101

<210> 66

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> misc-feature

<222> (51)..(51)

<223> n represents m repeats of a

<400> 66

caagatcgca gcattgcact ccagcctggg caacagaatg agattgtctc ngtgccacat 60

gccatgctat gtgccccaaag ttctcttcac acaacacagc c 101

<210> 67

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 67

ttagagccag tcagaattca atctccaata tcctgactag cacaagaaat ycataggttg 60

attcttgttc tcctgcatct ctgcagggtgg caaacctgat t 101

<210> 68

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 68

ttgtgtgttt tcttaataaa ctttaccac ttattaaaag aataaaatga rggtggagtt 60

aattctgact acgggattcc tttttcactt ttataatgaa c 101

<210> 69

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 69

tccttctaac taaatcttat cataagcaaa tctatgcacc aaattattta rtacaattcc 60

taataacagc tgaaggacca tttatttgaa gcaatgttca c 101

<210> 70

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 70

ttagtacaat tcctaataac agctgaagga ccattttattt gaagcaatgt wcaccatagc 60

aaaattccag tgaagtctaa gaactgggac agtccgttga g 101

<210> 71

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 71

ttgccccatg aatgtgcaca tgcataattaa aatatgggca cctctttttaa ktcttttttt 60

tctcataata agtttgaaac tcacagtagg aaattgagag a 101

<210> 72

<211> 101

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 72

tggttgttct cgaactagct ggtttcccag agacagctgg agactgagca mataaagaca 60

tcattgagga aaaaggctac ctgtgtacctc atggagagct g 101

<210> 73

<211> 101

<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 73
catggagagc tgaaggctctg ataaatggga actgccagg t aatagctatg mtatttctga 60

cataaattta aaaactagta ttgtttcttc tagctctgtt t 101

<210> 74
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents m repeats of a

<400> 74
taatgttaaa ttggatctat aaacataagt caatttggct ctattatgtc ngagaatagg 60

agttttaact tatatctgtg ttttattaat attttgaagt a 101

<210> 75
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 75
ataagtcaat ttggctctat tatgtcaaaa gagaatagga gttttaactt wtatctgtgt 60

tttattaata ttttgaagta taggaacctc atgggtgtagc a 101

<210> 76
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 76
gtatgtgaca ggggctgcat gcaccgggtgg tctgggagga acagaacagg rcaggggagtt 60

cttctataca atagagaaca gaacaatgtt cttctataca a 101

<210> 77
<211> 101

<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 77
aggcggggccc aggcctgggt tcggggcctgg cgctgagctg cctgtatttg rttttacttc 60

cttggtggtt ttactgaata tgaaacaata taaaacaatg t 101

<210> 78
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 78
tggttttact tccttggtgt ttttactgaa tatgaaacaa tataaaacaa kgtgagaggg 60

tctttctctc ctctcaatgt caacatcata tatgattgga g 101

<210> 79
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 79
gctgggttgg ttgaagtttc tcttatcagt caggcacttt gcattttaag ygtactttac 60

caccgacacc ctcccccccc agcacacaca cacacacaca c 101

<210> 80
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 80
tcaggcactt tgcattttta gcgtacttta ccaccgacac cctccccccc magcacacac 60

acacacacac acacacacac acacacaaca tagtgaaatg g 101

<210> 81
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature

<222> (51).. (51)
<223> n represents m repeats of ca

<400> 81
ggcacttttgc attttaagcg tactttacca ccgacaccct ccccccccag nacatagtga 60

aatggaccgg tgggaattat atgatatgtg taatcaaaat a 101

<210> 82
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 82
gcacttttgca ttttaagcgt actttaccac cgacaccctc cccccccagc rcacacacac 60

acacacacac acacacacac acaacatagt gaaatggacc c 101

<210> 83
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51).. (51)
<223> n represents tctc or deletion

<400> 83
tctggaagta aacttaaaat gaaaattaga atttgctttc aattatacta ntatctaaat 60

cttaatttga aatttaaaatt attttgtctc tacccaaacc a 101

<210> 84
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 84
tatactatct ctatctaaat cttaatttga aatttaaaatt attttgtctc yacccaaacc 60

atcgatttca tggaaatggt taaattttct tttttttttt t 101

<210> 85
<211> 101

<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 85
cttaatttga aattttaaatt attttgtctc tacccaaacc atcgatttca yggaaatgtt 60

taaattttct tttttttttt tttttttgat ggagtctcac t 101

<210> 86
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents insertion of tttc or none

<400> 86
tattttgtct ctacccaaacc catcgatttc atggaaatgt tttaaattttc nttttttttt 60

tttttttttg atggagtctc actctgtcgc ccaggctgga g 101

<210> 87
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 87
aggctggagt gcagtggctc aatcttggct cactgcaacc tctgcctccc rggttcacac 60

cattctcctg cttcagcctc ctgagtagct gggactacag g 101

<210> 88
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 88
attctcctgc ttcagcctcc tgagtagctg ggactacagg tgcccgccac macacctggc 60

taattttttg tatttttagt agagatgggg tttcaccacg t 101

<210> 89
<211> 101

<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 89
acaacacctg gctaattttt tgtattttta gtagagatgg ggtttcacca ygttagccag 60
gatggtttcg atctcctgac ctcgtgatct gcctgcctcg g 101

<210> 90
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 90
atccccatca atttaatagg aattaagtta gaaatactag tatatatatt ycctttatat 60
actaattgta tatccatata aaagcattag taccattata t 101

<210> 91
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 91
agtatatata ttccctttat atactaattg tatatccata taaaagcatt mgtaccatta 60
tatgaaagta tatatgccat tccataaaaa tatatctacc a 101

<210> 92
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 92
ggaatttaaag aaaaaatgcc tgttttcact aagtcacct tcccctggca rtacatttcc 60
tgaactttta catacttaaa tagccagtta tgaaaaatgta a 101

<210> 93
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 93
acattttaaa cagactcctg cccacaaact atttttcctc tccaggaata rgaatggcaa 60

ctgaattgtt ccttcctttat tctatagctt taagtcaaac c 101

<210> 94
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 94
gaatggcaac tgaattgttc cttcctttatt ctatagcttt aagtcaaacc yaacataagc 60
aatcaaccct tccacccatt gtcctctttc tagctgctta t 101

<210> 95
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 95
ttgggggtga aataaaagat agacccctgc tgctctgcac gtagattcag yttgtatgcc 60
agggtgacat ttttaatttac agtagtccag acacctaaac a 101

<210> 96
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<400> 96
gggggtgaaat aaaagataga cccctgctgc tctgcacgta gattcagttt statgccagg 60
gtgacatttt aatttacagt agtccagaca cctaaacagg a 101

<210> 97
<211> 101
<212> DNA
<213> Homo Sapiens

<220>
<221> misc-feature
<222> (51)..(51)
<223> n represents m repeats of t

<400> 97
caacattgtt ttccttttga tggctctggga gtttttctat aagtttttgg nctcttcatt 60

agtggttag ttccatcatc atgtctgttt actattgaaa a 101

<210> 98

<211> 101

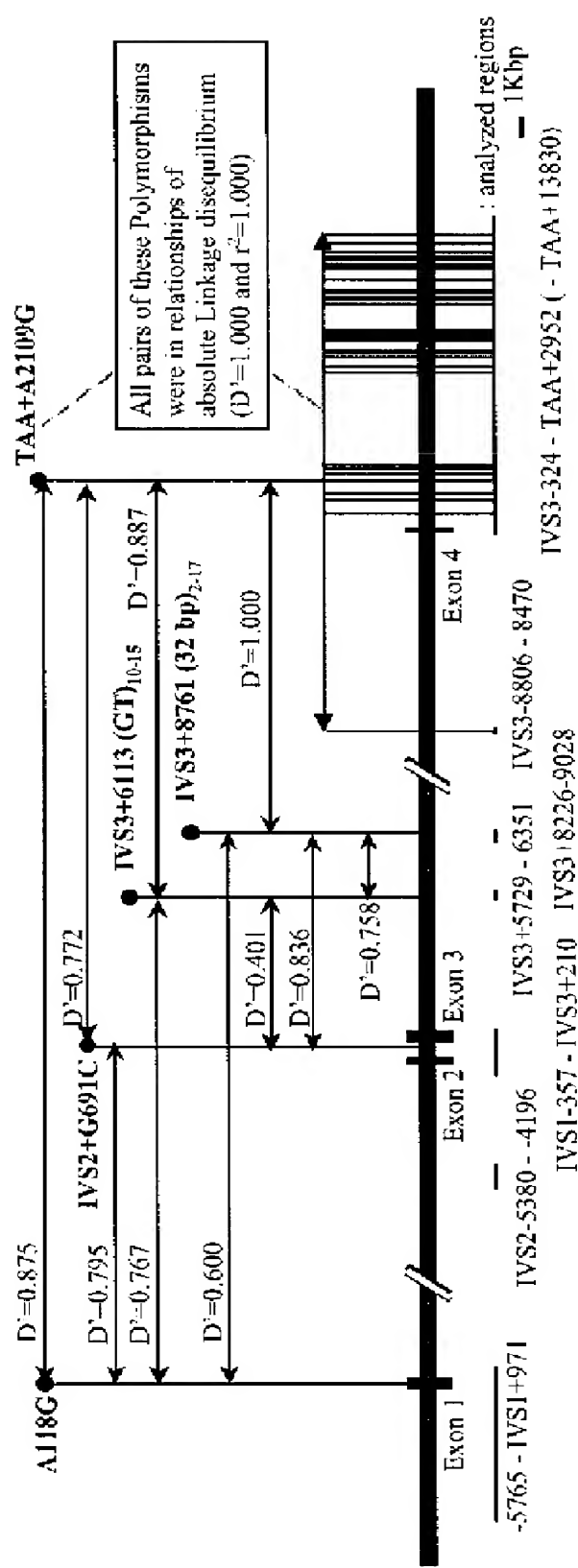
<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 98

ttgaaaatat aggcagctaa atccactgat agtctacttt ttttaaaaat ktgttcttga 60

tgttttgagc aggaaaatta ttgcaagaa acaaagagtt t 101



μオピオイド受容体遺伝子の概略図：解析範囲並びに主要多型間の連鎖不平衡解析結果

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 薬物に対する感受性の個人差を、 μ オピオイド受容体の遺伝子多型を用いて予測する方法を提供すること。

【解決手段】 ミューオピオイド受容体遺伝子の遺伝子多型又は該遺伝子多型により構成されるハプロタイプと、個体の薬物感受性とを関連づけることを特徴とする、薬物感受性の評価方法、および、配列番号1～98に示すいずれかの塩基配列からなる群から選択されるオリゴヌクレオチド。

【選択図】 なし

【書類名】	手続補正書
【整理番号】	P04-030
【提出日】	平成16年 4月14日
【あて先】	特許庁長官 殿
【事件の表示】	
【出願番号】	特願2004-106136
【補正をする者】	
【識別番号】	591063394
【氏名又は名称】	財団法人東京都医学研究機構
【代理人】	
【識別番号】	100092783
【弁理士】	
【氏名又は名称】	小林 浩
【電話番号】	03-3273-2611
【手続補正1】	
【補正対象書類名】	特許願
【補正対象項目名】	提出物件の目録
【補正方法】	追加
【補正の内容】	
【提出物件の目録】	
【物件名】	委任状 1

【添付書類】



408

委 任 状

平成16年4月8日

私儀 識別番号100095360 弁理士 片山 英二氏、
識別番号100093676 弁理士 小林 純子氏、
識別番号100092783 弁理士 小林 浩氏、
識別番号100112726 弁理士 黒田 薫氏、
識別番号100116850 弁理士 廣瀬 隆行氏、
識別番号100114409 弁理士 古橋 伸茂氏、
識別番号100120134 弁理士 大森 規雄氏、
識別番号100124305 弁理士 押嶋 涼子氏、

を代理人として次の事項を委任します。

1、特願2004-106136

特許出願に関する一切の件並びに本件に関する放棄若しくは取下げ、出願変更及び拒絶査定に対する
審判の請求並びにその取下げ。

2、上記出願に基づく特許法第41条第1項及び実用新案法第8条第1項の優先権主張並びにその取下げ
及び優先権主張に伴う後の出願に関する一切の件。

3、上記出願の分割出願に関する上記事項一切。

4、上記出願に関する審査請求、優先審査に関する事情説明書の提出、刊行物の提出、証明の請求及び上
記出願又は審判請求に関する物件の下附を受ける事項。5、第1項に関する通常実施権許諾の裁定請求、裁定取消請求並びにそれ等に対する答弁、取下げその他
本件に関する提出書類及び物件の下附を受ける事項。

6、上記出願に係る特許権に関する一切の手続。

7、上記各項に関し行政不服審査法に基づく諸手続に関する事項。

8、上記事項を処理するため、復代理人を選任及び解任する事項。

識別番号 591063394

住 所 東京都新宿区西新宿二丁目8番1号

名 称 財団法人 東京都医学研究機構

代表者 理事長 荻 野 忠



出願人履歴

5 9 1 0 6 3 3 9 4

20011009

住所変更

5 9 9 0 8 8 3 7 9

東京都新宿区西新宿二丁目 8 番 1 号

財団法人 東京都医学研究機構